

Tartu Ülikool  
Psühholoogia Instituut

Marten Vares

**Amfetamiini ja kroonilise muutliku stressi mõju 50-kilohertsistele  
ultrahelihäälitsustele erineva positiivse afektiivsusega rottidel**

Seminaritöö

Juhendajad: prof. Jaanus Harro MD, PhD

Kadri Kõiv PhD

Läbiv pealkiri: Positiivne afektiivsus ja tundlikkus amfetamiinile

Tartu 2013

## **Kokkuvõte**

Viimase tosina aastaga on hakatud tähtsustama positiivset afektiivsust ravimsõltuvuse uurimisel ning rottide kuditsemise uurimine on ennast tõestanud paljulubava uurimismeetodina sellistes katsetes. Käesoleva töö eesmärgiks oli uurida, kuidas mõjutavad amfetamiin ja krooniline muutlik stress erineva positiivset afektiga rottide 50-kilohertsiste ultrahelihäälitsuste arvu. Kõdistamisega palju- ja vähekudisejateks klassifitseeritud isastel Wistar rottidel (kokku n=40) tekitati pooltel krooniline stress. Katsegrupile (n=20) manustati viiel järjestikusel päeval amfetamiini (1 mg/kg, intraperitoneaalselt), kontrollrühmale füsioloogilist lahust. 9 päeva pärast viimast katset manustati amfetamiini kõigile rottidele. Katsete ajal salvestati 30 minuti jooksul nende kuditsemine, mida hiljem analüüsiti Wrighti ja tema kolleegide (2010) kirjeldatud häälitsuste osas. Tulemused näitasid, et stressi vähendas üldist kudinute arvu, sealhulgas amfetamiini poolt esilekutsutut, kusjuures viimane efekt oli tugevam vähekudisejate seas. Trillide arv sensitiseerus amfetamiini korduvmanustamisel paljukudisejate rottide seas, millest saab järeldada, et sõltuvuse tekkimine närviergutitest võib suurema ja väiksema positiivse afektiivsusega imetajatel eristuda.

**Märksõnad:** Krooniline stress, amfetamiin, sensitisatsioon, 50-kHz ultraheli vokalisatsioonid, positiivne afekt

## **Effects of amphetamine and chronic variable stress to 50-kHz ultrasonic vocalizations among rats with different positive affect**

### **Abstract**

Last dozen years have revealed that positive affect plays an important role in experiencing rewarding effects of psychoactive drugs. This has led to new methods in researching positive affect. One of the most promising seems to be measuring ultrasonic vocalizations among rats. The purpose of this paper is to examine how repeated exposure to amphetamine and chronic variable stress affects 50-kHz chirps in rats with different positive affect. Tickling sessions were conducted in order to divide rats to high chirpers (HC) and low chirpers (LC). Half of the rats were assigned on chronic variable stress regimen afterwards. Repeated doses of amphetamine (1 mg/kg, intraperitoneal) were administered on five consecutive days to the drug treatment group (n=20) and USV-s were measured during the 30 minute sessions. Results revealed that stress significantly reduced the total number of USV-s emitted by rats, including these elicited by amphetamine treatment. The effect of stress was stronger in LC-rats. Subcategories of USVs were also measured and results showed sensitization in trill calls only in HC group after repeated administration of amphetamine, whilst stress significantly decreased the number of trill calls emitted by all stress groups. These findings suggest that neurobiology of positive affect and development of drug addiction may vary in animals with high and low positive affectivity.

**Keywords:** Chronic variable stress, amphetamine, sensitization, 50-kHz USVs, positive affect

## Sisukord

Kokkuvõte .....	2
Abstract .....	3
Sissejuhatus .....	5
1.1 Rottide ultrahelihäälitsused ja kudinad .....	5
1.1.1 Rottide 22-kHz ultrahelihäälitsused .....	6
1.1.2 Rottide 50-kHz ultrahelihäälitsused ehk kudinad .....	6
1.2 Amfetamiini korduvast manustamisest tulenev sensitiseerimine .....	7
1.3 Krooniline stress.....	8
Meetod.....	9
Katseloomad.....	9
Kõdistamine .....	9
Stress .....	9
Sensitiseerimisprotseduur.....	10
Häälitsuste skoorimine .....	10
Statistiline analüüs.....	12
Tulemused .....	12
Stressi ja amfetamiini mõju trillidele .....	14
Stressi ja amfetamiini mõju muutliku sagedusega trilli-elementideta häälitsustele.....	15
Stressi ja amfetamiini mõju astmelistele häälitsustele .....	16
Stressi ja amfetamiini mõju lausikutele häälitsustele.....	17
Stressi ja amfetamiini mõju lühikestele häälitsustele.....	18
Arutelu.....	19
Lõppsõna .....	21
Kasutatud kirjandus.....	22

## Sissejuhatus

Ravimsõltuvus, selle tekkepõhjused, neurobioloogilised alused ja kuidas seda ravida, on tekitanud huvi paljudes teadlastes, mistõttu on ka sellel teemal arvestatav hulk kirjandust. Paljud peamised sõltuvuse tekkimise teooriad käsitlevad stressi olulise tegurina (Sinha 2008). Üks olulisi viise teema uurimisel on loomkatsete tulemustest luua paralleele inimeste käitumisega. Selliste katsete keskseks küsimuseks on olnud sõltuvusega seonduvate negatiivsete afektide uurimine, püüdes luua põhjuslikke järeldusi, miks ja kuidas sõltuvus tekib, kuid tegelikult võib positiivsete afektiivsete reaktsioonide uurimine olla sama oluline (Mällo et al. 2009, viide originaalallikatele Seligman ja Csikszentmihalyi 2000; Berridge 2003). Uuem paradigma on hakanud just keskenduma positiivset afekti tähtsustavatele uuringutele, kus muuhulgas on uuritud erinevate uimastite ja ravimite mõju positiivsete emotsioonide kogemisele. Kuna afektiivsus ei ole otseselt mõõdetav tunnus, on loodud suurel hulgal katsemudeleid, mis mõõdaks emotsionaalseid vastuseid stiimulitele või suhteliselt püsivat viisi afektiivselt reageerida. Eelnevalt levinud viisid on olnud näiteks liikumisaktiivsuse uuringud, samuti ka otsene käitumine uimasti suhtes (eneselemanustamise meetod), kuid viimase tosina aasta jooksul on ennast tõestanud rottide ultraheli vokalisatsioonide uurimine, mis võivad pakkuda võimalust vaadelda uimasti- ja ravimsõltuvusega kaasnevat afektiivsust.

Pikemas perspektiivis aitavad uuringud välja töötada efektiivsemaid abimeetodeid sõltuvuse tuvastamiseks ja raviks. Käesolev uurimus aitab mõista, millist rolli mängib stress sõltuvuse kujunemises.

### **1.1 Rottide ultrahelihäälitsused ja kudinad**

Etoloogilised uuringud on näidanud, et rotid teevad ultrahelisageduses vokalisatsioone väljendama erinevaid emotsionaalseid seisundeid (Brudzynski et al. 2007; Knutson et al. 1999). Üldises plaanis jaotatakse häälitsused kaheks suuremaks kategooriaks: 22-kHz ultrahelihäälitsused (enamasti sagedusvahemikus 20-32 kHz) ja 50-kHz ultrahelihäälitsused ehk kudinad<sup>1</sup> (sagedusvahemik varieerub 35-72 kHz) (Simola et al. 2012 viide originaalallikale Brudzynski 2005).

---

<sup>1</sup> Kudin – (ingl k. – *chirp, ultrasonic vocalization*) murdes tähendab kudin sosinat või „kihistades naeru“ (VM 1989: 'kudin')

### 1.1.1 Rottide 22-kHz ultrahelihäälitsused

22-kHz võib nimetada ka „häirehäälitsuseks“, sest rotid häälitsevad sellel sagedusel olukordades, mis on ärevusttekitavad või kui nad märkavad potentsiaalset ohtu või ohumärke, näiteks agressiivne liigikaaslane, kiskja, suur imetaja või vali hääl. Võitlusolukordades on täheldatud rotte selliseid häälitsusi tegevate (Brudzynski 2009, viide *originaalallikatele Barfield and Geyer 1972; Barfield and Thomas 1986; Lore et al. 1976; Thomas et al. 1983*). Sellistes olukordades aga teeb vaid üks loom võitluspaarist sellist häälitsust (Brudzynski 2009, viide *originaalallikatele Panksepp et al. 2004; Thomas et al. 1983*). Kuigi rottidel esineb selline häälitsus negatiivse afektiga seonduvates olukordades, ei viita häälitsus otseselt valustiimulile (Brudzynski 2009).

### 1.1.2 Rottide 50-kHz ultrahelihäälitsused ehk kudinad

Kudinaid seostatakse positiivse afekti kogemisega, mis rottidel kätkeb endas emotsionaalset vastust mitmetele erinevatele stiimulitele. Selliseid häälitsusi seostatakse rottidel ootusärevusega tasustiimulite suhtes: tingitud paigaeelistusega, söömisega ja ajustimulatsiooniga (Brudzynski 2009, viide *originaalallikatele Burgdorf et al. 2000; Knutson et al. 1999*), samuti on mitmed uuringud tõestanud seoseid uimastite manustamise ja häälitsuste vahel (Simola et al. 2012; Ahrens et al. 2009; Mu et al. 2009; Mahler et al. 2013; Wright et al. 2010).

Kudinate sagedusvahemikuks tuuakse erinevatel allikatel välja 35-72 kHz (Simola et al. 2012) või 30-90 kHz (Wright et al. 2010), kuid nad sisaldavad reeglina 50-55 kHz-komponenti, mis on neile üldkasutatava nime andnud. Viimastel aastatel kasutatud meetodika on näidanud, et 50-kHz häälitsused erinevad oma akustiliste omaduste poolest. Üldiselt jagatakse häälitsused akustiliste omaduste järgi kaheks kategooriaks: lausikuteks (*flat*) ja muutliku sagedusega (*frequency modulated*) kudinatega (*ibid.*). Uurides aga individuaalseid spektrogramme, on häälitsuste kategooriaid mõneti rohkem. Wright et al. (2010) katse kirjeldab 14 erinevat subkategooriat. Mahleri ja kolleegide (2013) uurimuses on eelnevat kategoriseerimist kohandatud, liites mõned kategooriad kokku ning jättes alles kolm kudina subkategooriat. Sellegipoolest on hetkeseisuga levinumaks jäänud käsitlus kui lausikutest ja muutliku sagedusega häälitsustest (Maier et al. 2012; Taracha et al. 2012).

Selliseid uurimusi, kus ultraheli-häälitsusi on subkategoriseeritud, ei ole palju, kuid Wrighti ja kolleegide (2010) uurimusest selgus, et erinevate akustiliste omadustega häälitsustel on erinev tähendus, mis on seotud sotsiaalsusega. Testides katseloomi üksikult, seejärel paaris, selgus,

et trillide osakaal suureneb sotsiaalses kontekstis, vastavalt kümnelt protsendilt 27%-le ning lausik-häälitsuste osakaal langeb 48%-lt 27%-le, mis viitab, et häälitsustel on sotsiaalne eesmärk. Täpsem tähendus kudinatega on omistamata, kuid uurimused on seostanud trille psühhostimulantide rahuldust pakkuvate efektidega (Wright et al. 2010, 2013; Simola et al. 2012; Mahler 2013).

Ravimsõltuvuse uurimisel tundub olevat oluline osa rottide trill- ja lausik-tüüpi kudinatel. Erinevate uimastite manustamine tõstab eelnimetatud ja teiste muutliku sagedusega trilli-elementideta häälitsuste esinemissagedust. Selle põhjuseks võib olla käitumuslik kontekst uimastite manustamisel. (Mahler et al. 2013)

### ***1.2 Amfetamiini korduvast manustamisest tulenev sensitiseerimine***

Sõltuvusttekitavate uimastite, eelkõige amfetamiini ja kokaiini, korduvmanustamine põhjustab pikalt kehtvat liikumisaktiivsuse tõusu, mida nimetatakse sensitiseerimiseks. (Alttoa et al 2004; 2007; Schoffelmeer et al 2002: 3269, viide originaalliketele Stewart ja Badiani 1993; Jeziorski ja White 1995; Pierre ja Vezina 1997; Vanderschuren ja Kalivas 2000). On leitud, et psühhoaktiivsete uimastite korduvmanustamine mõjutab ka pikaajaliselt kudinatega arvu: Maier ja kolleegid (2010) kirjeldasid oma uurimuses, kuidas kudinatega arv kasvas esimese nädala jooksul ning jõudis haripunkti teisel nädalal, langes järgneva kahe nädala jooksul. Sensitiseerimine arvatakse olevat üks võtmeprotsessidest sõltuvuse tekkel (Cador et al. 1999: 705; viide originaalliketele Robinson et al. 1993, Wise et al. 1987).

Väikeste amfetamiiniannuste manustamine on mitmetes katsetes rottidel sensitiseerimise tekitanud, kusjuures nende kudinatega arv tõuseb märgatavalt ning 22-kHz häälitsuste esinemissagedus langeb. Sealjuures on oluline jälgida annust, sest aktiivsuse tõus on täheldatav 1,0 mg/kg manustamisel, kuid mitte 0,5 või 2,0 mg/kg annusega. (Knutson et al 1999: 639)

Lisaks tundub psühhoaktiivsete uimastite suhtes sensitiseerimine ka tõstvat trill-häälitsuste osakaalu, samalaadset taandades lausik-häälitsuste esinemissagedust (Wright et al. 2010, 2013; Ahrens et al. 2009; Simola et al. 2012). Küll aga ei kutsu sensitiseerimine esile muutusi häälitsuste maksimaalses kõrguses, sagedusmuutlikkuses ega ka kestvuses (Simola et al. 2012). See tähendab, et amfetamiini sensitiseerimisest tulenev trill-häälitsuste esinemissageduse kasv ning lausik-häälitsuste arvukuse langus ei ole tingitud häälitsuste akustiliste omaduste moonutusest.

Trill-häälitsuste esinemissageduse kasvu amfetamiini sensitiseerimisega võib põhjendada amfetamiini mõjuga dopaminergilistele juhteteedele kaudse agonistina, kutsudes esile nii rahuldust kui ka positiivseid afektiivseid reaktsioone. Uurimistulemused on näidanud, et dopamiin ja noradrenaliin on olulised mediaatorid kudinade, eelkõige trillide, esilekutsumisel (Wright et al. 2013, viide originaallikale Wright et al 2012).

### **1.3 Krooniline stress**

Nagu eelnevalt juba mainitud – paljud levinumad ravimisõltuvuse põhjuslikkuse teooriad käsitlevad stressi olulise tegurina sõltuvuse tekkimisel ja tagasilanguse juures. Sajandi algus on toonud kaasa rohkelt uusi avastusi sõltuvuse ja stressi vaheliste seoste seletamisel (Sinha 2008). Kindlasti on üheks põhjuseks teema aktuaalsus, kuid teiseks ka läbimurdelised meetodid loomkatsemudelites. Üheks nendest on kindlasti rottide ultrahelihäälitsuste mõõtmine. Ilmunud on ka mõningaid artikleid, mis uurivad stressi ja ultrahelihäälitsuste vahelisi seoseid (Swiergiel et al. 2007, Mällo et al. 2009), kuid ei ole veel teaduspublikatsioone, mis uuriks positiivse afektiivsuse rolli ja muutusi psühhostimulantide korduvmanustamise ja kroonilise stressi koosmõjusid.

Mällo ja kolleegid (2007) leidsid, et loomade igapäevane kõdistamine kahenädalase perioodi vältel võimaldab nad klassifitseerida palju- ja vähekudisevateks ehk kõrge ja madala positiivse afektiivsusega rottideks. Selline meetod võimaldab ennustada, kuidas rotid käituvad mitmetes afektiivsete reaktsioonidega seonduvates testides. (vt Meetod)

Mällo koos kolleegidega (2009) avaldatud uurimusest selgus, et krooniline muutlik stressirežiim vähendab oluliselt kudinade arvu, kusjuures stressi suhtes on tundlikumad vähekudisejad isased rotid.

Käesoleva töö eesmärgiks on uurida, kuidas amfetamiini korduvmanustamine mõjutab positiivsete afektiivsete reaktsioonide väljendamisest rottidel, kellele on tekitatud krooniline stress, analüüsides nende kuditsemist.

Uurimisküsimusteks on:

- kuidas stress mõjustab amfetamiini poolt esilekutsutud kuditsemist?
- kuidas muutub kudinade arvukus amfetamiini korduvmanustamise vältel?
- kuidas mõjustab amfetamiin erinevate kudinatüüpide arvukust?



- kuidas mõjub stress erinevat tüüpi kudinate arvukusele?

## Meetod

### *Katseloomad*

Loomadeks olid 40 isast Wistar liini rott, kes eemaldati ema juurest kolme nädala vanusena ning majutati neljakaupa standartsetesse propüleenist puuridesse. Valgustsükkel oli reguleeritud: 12h – valgustsükkel/12h – pimedustsükkel). Puurides oli toit ja vesi vabalt kättesaadavad. Eksperimendid olid kooskõlas Euroopa Komisjoni direktiiviga nr 2010/63/EU.

### *Kõdistamine*

Mällo ja kolleegid (2007) leidsid, et loomade igapäevane kõdistamine kahenädalase perioodi vältel võimaldab nad klassifitseerida palju- ja vähekudisevateks ehk kõrge ja madala positiivse afektiivsusega rottideks. Selline meetod võimaldab ennustada, kuidas rotid käituvad mitmetes afektiivsete reaktsioonidega seonduvates testides.

Protseduur kujutab endas noorte rottide loomuliku mängu simulatsiooni, mis kutsub esile kudinaid. Enne kõdistamist asetatakse rott tema kodupuuriga analoogsesse kasti, kus lastakse tal 15 sekundit habitueeruda uue keskkonnaga, pärast mida kõdistamine algas, mis kestis 15 sekundit ning seda korrati neli korda. Kõik kudinad salvestati ja hiljem loeti spektrogrammidelt manuaalselt kokku. Seda korrati iga päev kahe nädala jooksul, kolme viimase päeva (päev 12, 13 ja 14) keskmiste alusel jagati rotid rotid paljukudisejateks (HC – inglise keeles *high-chirping*) ning vähekudisejateks (LC – inglise keeles *low-chirping*) subjektideks.

### *Stress*

Enne stressirežiimi algust majutati loomad 4-kaupa. Krooniline muutik stressirežiim kestis 3 nädalat, stressoriteks olid: 1) kahetunnine liikumise takistamine puuris 2) 24 puurikalle (24 tundi, 45-kraadi) 3) viieminutiline pesulõksuga saba näpistamine sabajuure lähedalt 4) kaks tundi neljakraadises keskkonnas hoidmine 5) stroboskoopiline valgus (sagedusvahemikus 10-50 kHz, 12-tundi) 6) pimedustsükli ajal (12 tundi) tugevas valguses (900 lx) hoidmine, 7) viieminutiline kinnihoidmine (süstimise imitatsioon) 8) puuripõhjast eemaldati saepuru ning asendati 5-mm veega pimedustsükli ajal (12 tundi) 9) looma tunniks ajaks ümarale 10-sentimeetrise diameetriga platvormile asetamine, mis asetses maast 75 sentimeetri kõrgusel ning oli samaaegselt tugevalt valgustatud (900 lx) 10) vali valge müra pimedustsükli ajaks (12

tundi) 11) 12 tundi üleasustatud puuris (kaheksa rotti erinevatest puuridest tavalise nelja asemel). Kõik stressiprotseduurid viidi läbi eraldi ruumis, et mitte häirida kontrollgrupi loomi. Pärast kroonilise muutliku stressirežiimi lõppu viidi nädala jooksul läbi käitumiskatsed: avarväli, sotsiaalne eelistus, objekti äratundmistest, tõstetud null-puur, sundujumine (tulemusi ei raporteerita). Käitumiskatsete järgselt taastati stressirežiim nädala jooksul, kasutades üht pikka ja üht lühikest stressorit päevas.

### ***Sensitisatsiooniprotseduur***

Katses oli neli gruppi: (1) vähekudisejate kontrollgrupp; (2) vähekudisejate kroonilise stressi grupp; (3) paljukudisejate kontrollgrupp ja (4) paljukudisejate kroonilise stressi grupp. Loomad jagati katsegrupiks ja kontrollgrupiks, võttes kummassegi gruppi eelnevast neljast grupist viis looma. Katsed viidi läbi loomaruumis selleks eraldatud ruumiosas. Katseloomad harjutati katsepuuriga kolmel järjestikusel päeval 10 minuti jooksul, kusjuures 3. päeval said kõik rotid füsioloogilise lahuse süsti kõhuõõnesisesi. Eksperimendipuuri oli identne rottide igapäevase elupaigaga, kuid puudusid vesi ja söök. Saepuru eksperimendipuuris katsete vahel ei vahetatud. Enne katse algust loomad kaaluti. Süst tehti vahetult enne looma asetamist eksperimendipuuri. Katsegrupile (n=10) manustati viiel järjestikusel päeval 1,0 mg/kg amfetamiini (Tocris Bioscience, United Kingdom; lahustatud steriilses 0.9% NaCl lahuses, 1ml/kg kohta) kõhuõõnesisesi. Kontrollgrupile (n=10) manustati kõhuõõnesisesi steriilset füsioloogilist lahust.

Järgneva kolmekümne minuti jooksul salvestati rottide ultraheli vokalisatsioonid. Mikrofon asetseti umbes 20 sentimeetri kõrgusel puurist. Salvestusprogrammiks oli Avisoft SASLab Pro (Avisoft Bioacoustics, Berlin, Germany). 14. päeval katse algusest manustati amfetamiini annuses 1 mg/kg kõigile katseloomadele..

### ***Häälitsuste skoorimine***

Helifailid lõigati programmiga Audacity (vabavara) kuueks ajavahemikuks (minutid: 1-3; 6-8; 11-13; 16-18; 21-23; 26-28), mille põhjal kudinaid skooriti. Häälitsused skooriti spektrogrammidel programmiga Avisoft SASLab PRO [FFT pikkus 1024 punkti, kattuvus 75% (Hamiltoni aken, 100% suurus)] ning sildistati subkategoriateks manuaalselt kahe treenitud hindaja poolt. Subkategoriad moodustati Wright jt. (2010) uurimuses kasutatud kategoriseerimismeetodi edasiarendatud variandiga, lähtudes Mahleri ja kolleegide (2013) uurimuses kasutatud liitmismeetodit, kus oli eristatud trille, muutliku sagedusega kudinaid ja lausikuid. Kasutusele on võetud ka kategooriad astmelised ja lühikesed häälitsused:

- Trillid – sisaldavad järske vaheldumisi sageduses vähemalt 3 kilohertsi, kestvuseks rohkem kui 12 millisekundit. Wrighti jt. (2010) kategooriatest kuulub selle alla 1) kompleksed kudinad – häämitsus sisaldab kahte või rohkemat vähemalt 3-kilohertsist sageduse muutust 2) trill – järsk vaheldumine sageduses, mille kestvuseks on umbes 15 millisekundit 3) lausik-trill kombinatsioon – trill, mis on ühelt või mõlemalt poolt katkematult piiritletud monotoonse heliga, mis ei kesta vähem kui 10 millisekundit 4) trill hüpetega – trill, mis koosneb ühest või rohkemast kõrgema sagedusega komponendist 5) komposiit-kudinad – kudinad, mis sisaldavad kahe või rohkema kategooria elemente. Omalt poolt on lisatud nimistusse ka kompleksed trillid, mis sisaldavad nii komplekssete-kudinate elemente kui ka trilli-elemente. Kõigi häämitsuste sarnasuseks olid trilli-elementid, mistõttu need ka üheks kategooriaks kokku liideti.
- Muutliku sagedusega trilli-elementideta kudinad – olemuselt muutliku sagedusega, kuid ei sisalda järske vaheldumisi ehk trilli-elemente, kestvus peab olema vähemalt üle 12 millisekundi ning muutus sageduses vähemalt 0,2 kilohertsi. Wrighti jt (2010) kategooriatest kuulub nende kudinate alla: 1) tõusvad nõlvakud – monotoonselt kasvava sagedusega kudin, mille sageduse muutus ajaühikus (lõpp- miinus alguspunkt jagatud häämitsuse kestvusega) on vähemalt 0,2 kilohertsi 2) langevad nõlvakud – monotoonselt langeva sagedusega kudin, mille kallak on vähemalt 0,2 kilohertsi 3) pahupidi-U – kudin tõuseb monotoonselt, millele järgneb samasugune langus, mille muutus sageduses on vähemalt 5 kilohertsi.
- Astmelised kudinad – sisaldavad hüplikke sageduse muutusi, kusjuures hüppe hetkel heli katkeb, kestvuseks rohkem kui 12 millisekundit. Wrighti jt. (2010) uurimuse kategooriatest kuuluvad nende kudinate hulka: 1) lõhega kudinad – keskmine komponent hüppab madalamale sagedusele 2) üles hüppavad – kiire hüpe kõrgemale sagedusele 3) alla hüppavad – kiire hüpe madalamale sagedusele 4) hüpidud (*multi-step*) – kaks või rohkemat hüpet sageduses. Lisatud on kategooria nimega hüpped, mis nägid välja nagu trillide tipud ja asetsevad erinevas sageduses, kuid puudus vaheldumine sageduses, seega ei sobinud need trillide kategooriasse.
- Lausik-kudinad – konstantse sagedusega heli, mille muutus sageduses ei ületa 0,2 kilohertsi ning kestvuseks on üle 12 millisekundi.
- Lühikesed kudinad – kestvus on alla 12 millisekundi.

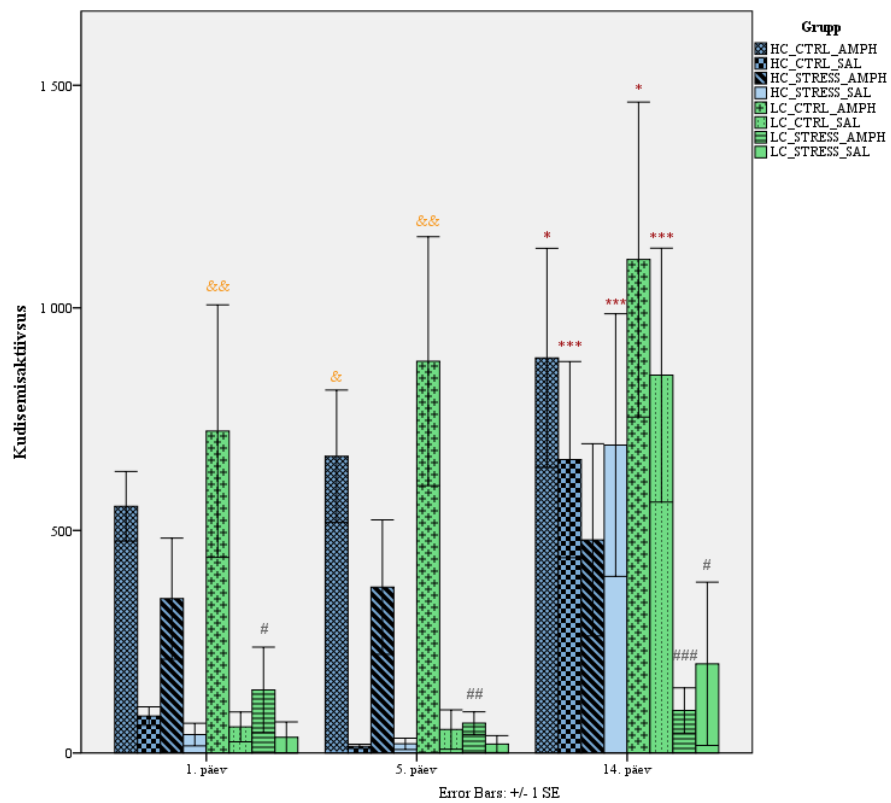
### **Statistiline analüüs**

Analüüs viidi läbi andmetöötlusprogrammiga IBM SPSS Statistics 21. Erinevusi kudisemises hinnati gruppide-vaheliselt kordusmõõtmiste ANOVA-ga, kus kategoriaalseteks muutujateks olid kõrge vs madal positiivne afektiivsus, amfetamiin vs saliinilahus, stress vs kontrollgrupp ja sõltuvateks tunnusteks olid esimese päeva, viienda päeva ja sensitisatsioonipäeva kudisemine. Kudina subkategoriate arvukuse hindamisel kasutati sama meetodit, kusjuures analüüs viidi läbi trillide, astmeliste, muutliku sagedusega trilli-elementideta, lausikute ja lühikeste häälsüste arvu suhtes. Post-hoc testina kasutati Fisheri LSD testi. Tulemuste statistilise olulise nivooks oli 0,05.

### **Tulemused**

Kordumõõtmistega ANOVA-st selgub, et kudisemine (Joonis 2) erines päevade lõikes [ $F(2,64)=26,2$ ;  $p<.0001$ ], oluline mõju oli stressil ja amfetamiini manustamisel [kordusmõõtmise interaktsioonid vastavalt  $F(2,64)=3.5$ ;  $p<.05$  ja  $F(2,64)=7.5$ ;  $p<.01$ ]. Post hoc testid näitasid, et stress vähendas oluliselt LC-amfetamiiniloomade kudisemist nii esimesel, viiendal kui 14. päeval (vastavalt  $p<.05$ ;  $p<.01$ ;  $p<.001$ ) Samuti ka LC-lahustigrupi kudinaid amfetamiini ühekordsele manustamisele 14.päeval ( $p<.05$ ). Võrreldes esimese katsepäevaga tõusis sensitisatsioonipäevaks nii HC kui ka LC uimastigruppide kudinate arv (mõlemal  $p<.05$ ). Amfetamiini ühekordne manustamine 14. päeval tõstis oluliselt kudisemist HC ja LC-lahustigruppidel (mõlemal  $p<.001$ ), samamoodi ka HC-stressigrupil ( $p<.001$ ), kuid mitte LC-stressigrupil.

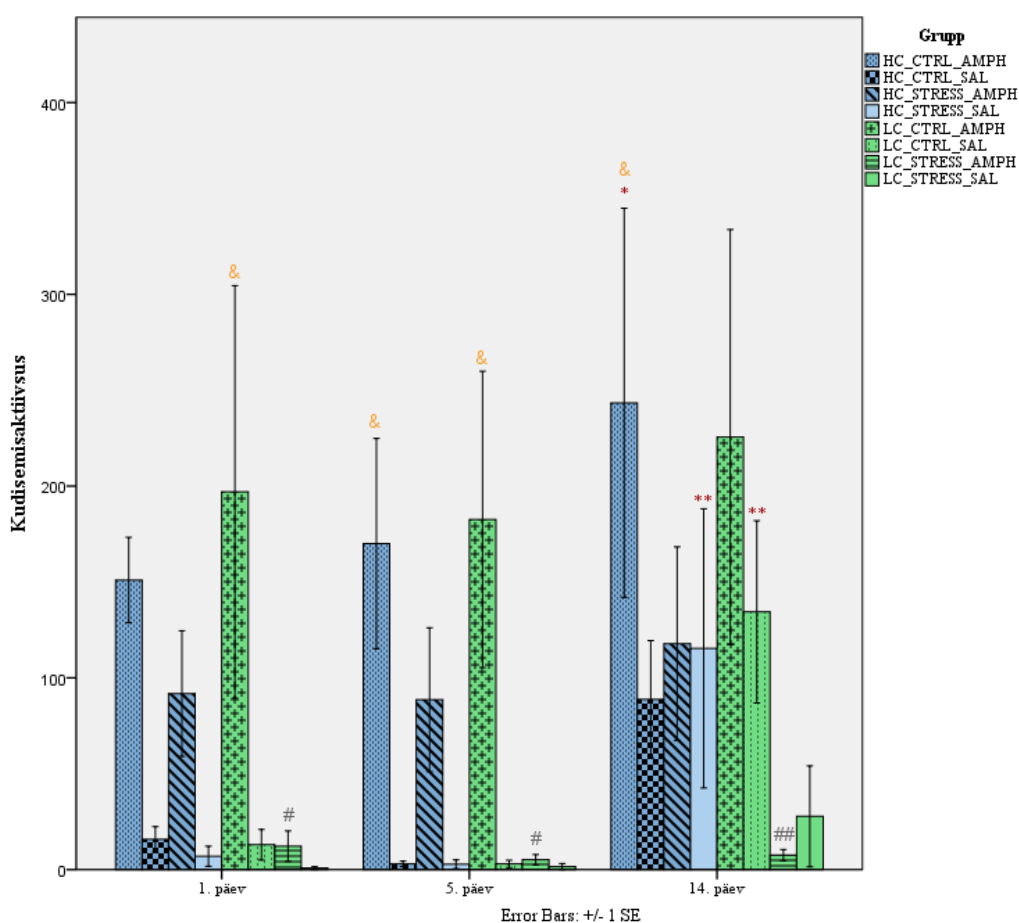
Sensitisatsioonipäeval, kui amfetamiini said kõik loomad, ei erinenud viis korda amfetamiini saanud rotid kudinate arvult ühekordselt amfetamiini saanud loomadest, mis tähendab, et kudinate üldarv katserühmade lõikes ei sensitiseerunud.



**Joonis 2.** Gruppide üldine kudinute arv päevade lõikes (Keskmised+SEM). \* -  $p < 0.05$  \*\* -  $p < 0.01$  \*\*\* -  $p < 0.001$  vs 1. päeva summa; # -  $p < 0.05$  ## -  $p < 0.01$  ### -  $p < 0.001$  vs CTRL-grupp; & -  $p < 0.05$  && -  $p < 0.01$  &&& -  $p < 0.001$  vs SAL-grupp.

**Stressi ja amfetamiini mõju trillidele**

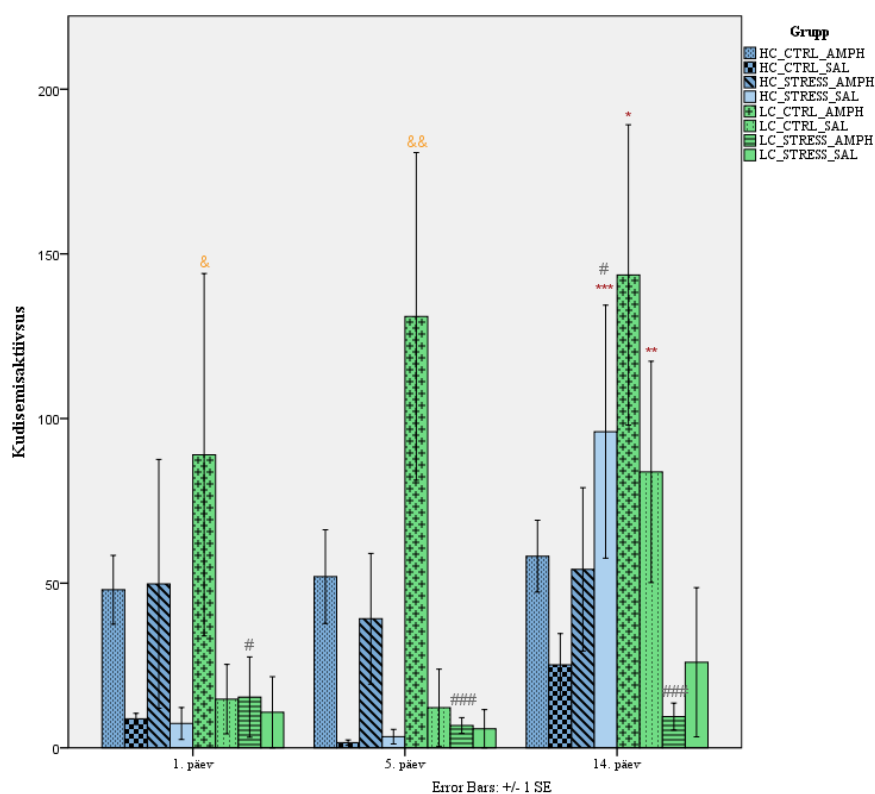
Trillide arv (Joonis 3) erines päevade lõikes [ $F(2,64)=12,5$ ;  $p<.0001$ ], oluline mõju oli amfetamiini manustamisel ja stressil [kordusmõõtmise interaktsioonid vastavalt  $F(2,64)=8,9$ ;  $p<.006$  ja  $F(1,32)=6,7$ ;  $p<.05$  ja  $F(2,64)=4,1$ ;  $p<.05$ ]. Post-hoc testidest selgus, et 14. päeva tulemused erinevad esimesest päevast HC-amfetamiiniroottidel ( $p<.05$ ). Amfetamiini ühekordne manustamine tõstis 14. päeval HC-stressigrupil ( $p<.01$ ) ning LC-saliinigrupil ( $p<.01$ ) trillide arvu. Korduvmanustamine tõstis olulisel määral trillide arvu LC-amfetamiinigrupis esimesel ja viiendal päeval (mõlemal  $p<.05$ ). Stress vähendas oluliselt trillide arvu LC-ravimigrupil esimesel, viiendal ja 14. päeval (vastavalt  $p<.05$ ;  $p<.05$ ;  $p<.01$ ).



Joonis 3. Trillide üldarv grupiti. \*- $p<.05$  \*\*- $p<.01$  \*\*\*- $p<.001$  vs 1. päeva summa; #- $p<.05$  ##- $p<.01$  ###- $p<.001$  vs CTRL-grupp; &- $p<.05$  &&- $p<.01$  &&&- $p<.001$  vs SAL-grupp.

**Stressi ja amfetamiini mõju muutliku sagedusega trilli-elementideta häälightsustele**

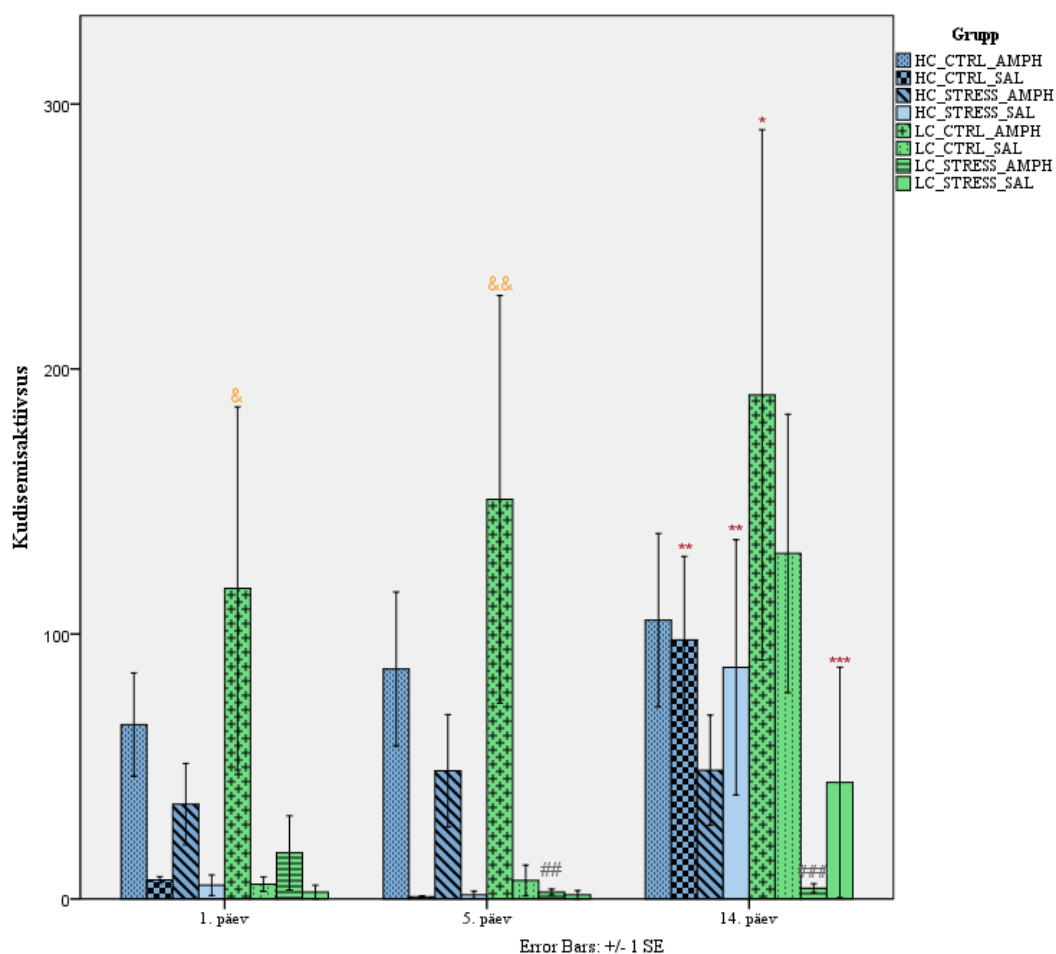
Kordusmõõtmisega ANOVA-st selgus, et olulist mõju muutliku sagedusega häälightsuste arvukusele (Joonis 4) avaldab katsepäeva, looma afektiivsuse ja stressi vastastikune toime [ $F(2,64)=5,2$ ;  $p=.02$ ]. Ilmneb katsepäeva peamõju kudisemisele LC-amfetamiiniloomade seas esimesel ja viiendal päeval [vastavalt  $F(2,64)=4,6$ ;  $p<.05$ ;  $p<.01$ ], kuid mitte sensitisatsioonipäeval. Võrreldes esimese ja 14. päeva häälightsuste arvukust, esineb erinevus amfetamiini ühekordsel manustamisel palju kudisevate stressirottide seas [ $F(1,395)=5,2$ ;  $p<.001$ ] ning vähe kudisevate kontrollgrupi [ $F(2,64)=5,19$ ;  $p<0,01$ ] ja lahusegrupi loomade seas [ $F(2,64)=4,57$ ;  $p<0,05$ ]. Amfetamiini peamõju kudisemisele on vähekudisejate amfetamiinigrupi seas esimesel ja viiendal päeval [vastavalt  $F(2,64)=4,6$ ;  $p<.05$ ;  $p<.01$ ]. Stress avaldab mõju kudinate arvule vähekudisevate ravimigrupis esimesel, viiendal ja sensitisatsioonipäeval [vastavalt  $F(2,64)=5,2$ ;  $p<.05$ ;  $p<.001$ ;  $p<.001$ ]. Samuti ka paljukudisejate saliinigrupis sensitisatsioonipäeval [ $F(2,64)=4,6$ ;  $p<.05$ ].



**Joonis 4.** Muutliku sagedusega mitte-trill häälightsuste üldarv grupiti (Keskmine+SEM). \*- $p<.05$  \*\*- $p<.01$  \*\*\*- $p<.001$  vs 1. päeva summa; #- $p<.05$  ##- $p<.01$  ###- $p<.001$  vs CTRL-grupp; &- $p<.05$  &&- $p<.01$  &&&- $p<.001$  vs SAL-grupp

**Stressi ja amfetamiini mõju astmeliste häälightsustele**

Esineb katsekorra ja amfetamiini koosmõju häälightsuste arvukusele [ $F(2,64)=6,6$ ;  $p<.05$ ]. Kudisemine oleneb katsepäevast [ $F(2,64)=17,7$ ;  $p<.0001$ ]: erinevad esimese ning 14. päeva aktiivsus ühekordse manustamisega HC- ja LC-stressigrupi (vastavalt  $p<.01$ ;  $p<.001$ ), samuti HC-lahustigrupi ja LC-ravimigrupi seas (vastavalt  $p<.01$ ; ja  $p<.05$ ). Statistiliselt oluline erinevus tuleb välja ka katsekorra ja LC-ravimigrupi vahel esimesel ning viiendal päeval (vastavalt  $p<.05$ ;  $p<.01$ ). Olulist mõju astmeliste häälightsuste arvukusele avaldab stress LC-lahustigrupile viiendal ja sensitisatsioonipäeval [vastavalt  $F(2,64)=3,2$ ;  $p<.01$ ;  $p<.001$ ], kuid mitte esimesel päeval.

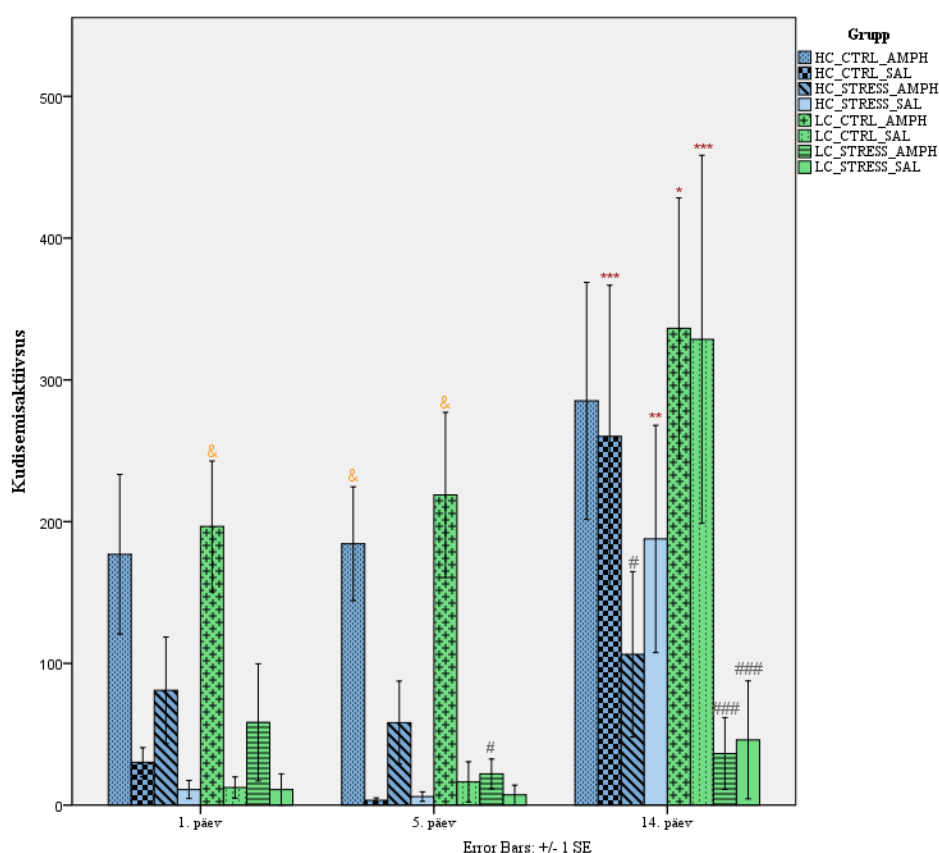


**Joonis 5.** Astmeliste häälightsuste üldarv grupiti (Keskmine+SEM). \* $p<.05$  \*\* $p<.01$  \*\*\* $p<.001$  vs 1. päeva summa; # $p<.05$  ## $p<.01$  ### $p<.001$  vs CTRL-grupp; & $p<.05$  && $p<.01$  &&& $p<.001$  vs SAL-grupp.



**Stressi ja amfetamiini mõju lausikutele häälitsustele**

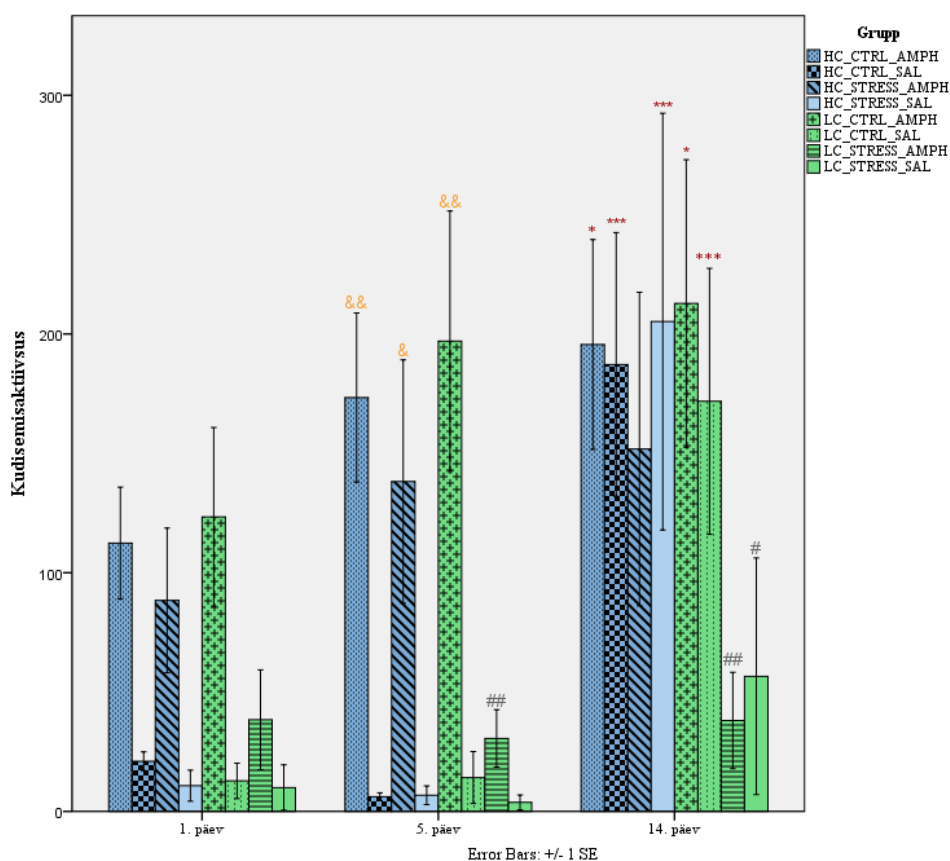
Lausik-häälitsuste arv (Joonis 6) olenes katsekorrast [ $F(2,64)=21,8$ ;  $p<.0001$ ]. Olulised erinevused, võrreldes esimest ja 14. päeva, olid HC-lahusegrupi ( $p<.001$ ), HC-stressi lahustigrupi ( $p<.01$ ) ja LC-lahusti- ( $p<.05$ ) ning LC-amfetamiinigrupi ( $p<.001$ ) lausikute arvukuse vahel. Katsekorra ja amfetamiini koosmõju [ $F(2,64)=5,2$ ;  $p<.01$ ] avaldus HC-ravimigrupil viiendal päeval ( $p<.05$ ), samuti ka LC-ravimigrupi esimesel ja viiendal katsepäeval (mõlemal  $p<.05$ ). Stressi ja katsekorra interaktsioon [ $F(2,64)=6$ ;  $p<.005$ ] mõjus oluliselt lausikute arvukusele LC-uimastigrupis viiendal ja 14. päeval (vastavalt  $p<.05$ ;  $p<.001$ ), LC-lahustigrupis sensitisatsioonipäeval ( $p<.001$ ). Samasugune mõju avaldus ka HC-ravimigrupis 14. päeval ( $p<.05$ ).



**Joonis 6.** Lausik-häälitsuste üldarv grupiti (Keskmine+SEM). \*- $p<.05$  \*\*- $p<.01$  \*\*\*- $p<.001$  vs 1. päeva summa; #- $p<.05$  ##- $p<.01$  ###- $p<.001$  vs CTRL-grupp; &- $p<.05$  &&- $p<.01$  &&&- $p<.001$  vs SAL-grupp.

**Stressi ja amfetamiini mõju lühikestele häälitsustele**

Lühikeste kudinute arvukus erines katsepäeviti [ $F(2,64)=28,2$ ;  $p<.0001$ ]. Esimese ja 14. päeva võrdluses erinesid tulemused amfetamiini ühekordsel manustamisel HC-lahustigruppides loomade seas, kellel oli stress ( $p<.001$ ) kui ka rottidel, kellel ei olnud stressi ( $p<.001$ ). Oluline erinevus oli märgatav ka HC-amfetamiinigrupi häälitsuste arvukuses ( $p<.05$ ), lisaks LC-amfetamiinigrupi ( $p<.05$ ) ja LC-saliinigrupi ( $p<.001$ ) tulemuste seas. Stress [ $F(2,64)=5,8$ ;  $p<.05$ ] avaldas olulist mõju LC-ravimigrupi viienda ja 14. päeva tulemustele (vastavalt  $p<.01$ ;  $p<.001$ ), samuti ka LC-lahustigrupi sensitisatsioonipäeva tulemustele ( $p<.05$ ). Lühikeste häälitsuste arv sõltus ka katsekorra ja amfetamiini koosmõjust [ $F(2,64)=11,2$ ;  $p<.0001$ ]. Arvukus erines oluliselt HC-amfetamiinigrupi, HC-stressigrupi ja LC-amfetamiinigrupi viienda päeva tulemustele (vastavalt  $p<.01$ ;  $p<.05$ ;  $p<.01$ ).



**Joonis 7.** Lühikeste häälitsuste üldarv grupiti (Keskmine+SEM). \*- $p<.05$  \*\*- $p<.01$  \*\*\*- $p<.001$  vs 1. päeva summa; #- $p<.05$  ##- $p<.01$  ###- $p<.001$  vs CTRL-grupp; &- $p<.05$  &&- $p<.01$  &&&- $p<.001$  vs SAL-grupp.

## **Arutelu**

Käesoleva töö eesmärgiks oli uurida, kuidas mõjutab amfetamiin ja krooniline muutlik stress positiivset afektiivsust. Kõdistamisega palju- ja vähekudisejateks klassifitseeritud loomadest (n=40) pooled allutati kroonilise muutliku stressi režiimile. Katsegrupile (n=20) manustati viiel järjestikusel päeval amfetamiini ning üheksa päeva hiljem kõigile (n=40). Samal ajal salvestati nende kудisemine, mida hiljem analüüsiti.

Tulemustest selgus, et stress langetas oluliselt üldist kudinade arvukust nii palju- kui ka vähekudisejatel rottidel, kuid statistiliselt oluliselt ainult viimastel. Huvitav oli, et stressi tagajärjel vähenes kудisemine ka amfetamiini korduvmanustamisel, vähekudisejate seas esines igal katsepäeval statistiliselt oluline erinevus kontrollgrupi ja stressigrupi vahel. Ka amfetamiini ühekordne manustamine mõjus stressiloomadest vaid paljukudisejatele loomadele. Ülejäänud stressigruppides jäi see efekt statistiliselt mitte-oluliseks. Sellistest näitajatest saab järeldada, et stress vähendab ka amfetamiini poolt esilekutsutud kудisemist.

Stressi mõju ei kadunud ka sensitisatsioonipäevaks, mõlemal vähe kудiseval stressigrupil oli statistiliselt oluline erinevus kontrollgrupiga. Samas ei näidanud ANOVA ega ka post-hoc test, et paljukudisevate rottide seas oleks statistiliselt oluline mõju stressil olnud, seega on vähekudisejad rotid tundlikumad stressi suhtes. See on kooskõlas Mällo ja kolleegide (2009) uurimusega, kust järeldati, et stressi vastu on tundlikumad just vähekudisejad isased rotid.

Andmete analüüsist tuli välja, et amfetamiini korduvmanustamise ja ühekordse manustamise suhtes ei esinenud sensitisatsioonipäeval statistiliselt olulist erinevust, mis tähendab, et üldise kудisemise põhjal sensitisatsiooni ei tekkinud.

Kudinade kategoriseerimisel kasutati töös meetodit, mis on edasiarendus Wrighti ja kolleegide (2010) ning Mahleri jt (2013) uurimustest, kus esimeses oli 14 ning teises kolm erinevat kategooriat kudinade jaoks. Häämitsuste skoorimisel selgus, et selline klassifikatsioon vajab mõningast kohendamist, seega on käesolevas töös kasutatud viite erinevat kategooriat. Suuresti on täiendatud muuhulgas ka trill-kategooriat, kuhu alla kuuluvad kõik trilli-elemente sisaldavad häämitsused ehk kindlaks akustiliseks omaduseks on järsk vaheldumine sageduses.

Trillidel tundub olevat seos ravimite ning uimastite hedooniliste efektidega. Nende arvukus oleneb ka ravimist, mida manustatakse. Eelnevalt publitseeritud uurimustes on leitud tugevaid seoseid just amfetamiini ja trillide kõrge arvukuse vahel (Wright et al. 2010; 2013; Mahler et al. 2013).

Uurimusi toetavad ka käesoleva töö tulemused, sest trillide arvukus oli kõrge just amfetamiini korduvmanustamisel. Lisaks tuli lahustigruppide ja uimastigruppide võrdluses välja oluline erinevus trillide arvukuse vahel, ja seda nii palju- kui ka vähe kudisevate loomade seas. Trillid sensitiseerusid korduvmanustamisel ainult paljukudisejatel – tulemused erinesid oluliselt võrreldes esimese päevaga, samuti ka 14. päeval vastava lahustigrupiga. Need andmed on kooskõlas ideega, et amfetamiini manustamisel tõuseb trillide esinemissagedus.

Stressiloomade trillide arv oli igal katsekorral madalam kui vastavate kontrollgruppide oma. Huvitav oli aga stressi mõju vähe kudisevate loomade seas amfetamiini poolt esilekutsutud kudisemisele. Nimelt kui amfetamiin tõstis vastavas kontrollgrupis korduvmanustamisel trillide arvu, siis stressiloomadel oli ravimi suhtes peaaegu olematu reaktsioon või vähemalt kaotas stress amfetamiini mõju kudinate esinemissagedusele. Sellist efekti ei olnud palju kudisevate loomade seas. See võib tähendada, et vähe kudisejatel kaob või väheneb oluliselt kroonilise stressi tõttu positiivse afekti kogemine.

Amfetamiin tõstis ka muutliku sagedusega trilli-elementideta häälsuste arvukust. Korduvmanustamisel kasvas seda tüüpi kudinate arv oluliselt vähe kudisevatel loomadel. Efekti oli märgata juba esmasel manustamisel ning see säilis terve katse aja. Huvitavalt oli paljukudisevatel stressirottidel ühekordsel manustamisel muutliku sagedusega häälsuste arv suuresti kõrgem võrreldes esimese päevaga. Samas vähe kudisevatel stressirottidel püsis korduvmanustamisel häälsuste arv madalana ning võrreldes kontrollgrupiga tuli välja pidev statistiliselt oluline erinevus. Sellised leiud võivad viitada ka sellesse kategooriasse kuuluvate häälsuste seost ravimite tasustavate efektidega.

Stress vähendas ka vähe kudisevate loomade amfetamiini poolt esilekutsutud astmeliste häälsuste arvukust, samal ajal ei ilmnenud seda mõju LC-lahustigruppides ühekordsel manustamisel. Amfetamiini korduvmanustamine mõjutas oluliselt vähe kudisejate, kellel ei olnud stressi, astmeliste häälsuste emiteerimist. Selliseid häälsusi seostatakse ihaga ravimite manustamise ja nende tasustavate efektide vastu (Mahler et al 2013). Tulemused võivad seda ideed mingil määral toetada, arvestades, et amfetamiini korduvmanustamine soodustas selliste häälsuste tegemist.

Lausikuid seostatakse pigem sotsiaalse kontekstiga kui positiivse afektiivsusega (Mahler et al 2013: 86). Käesoleva töö tulemused seda ideed ei toeta, sest amfetamiin tundus lausikute arvu tõstvat ka mitte-sotsiaalses kontekstis. Teisalt võib spekuloida, et teiste rottide poolt kasutatud saepuru kasutamine lisas mingi sotsiaalse konteksti.

Nii palju kui ka vähe kudisevate loomade seas esines lausikute puhul oluline erinevus amfetamiinigrupi ja lahustigrupi vahel. See räägib vastu Ahrensi ja teiste (2009) uurimusele, kus tulemused näitasid, et amfetamiinil ei olnud lausikute arvukuse suhtes mõju, kuigi see erinevus võib tulla asjaolust, et nende katses on kasutatud Long-Evans liini rotte, kuid käesolevas töös on katseloomadeks olnud Wistar liini isendid.

Stress vähendas ka lausikute arvu, samamoodi oli mõju tugevam vähe kudisevate loomade seas. Oluline tegur oli ka amfetamiini ja stressi interaktsioon, mis avaldus palju- ja vähekudisejatel rottidel.

Lühikeste kudinate arv tõusis mõlematel, palju- ja vähekudisejatel, amfetamiini ühekordsel manustamisel sensitiseerimispäeval: tulemused olid võrreldes esimese päevaga oluliselt kõrgemad. Wright jt (2010) uurimuse tulemused näitavad analoogseid tulemusi, kus amfetamiini manustamine tekitab lühikeste häälightsuste suurenemist. Mõju oli ka stressil, mis taandas selliste kudinate esinemissagedust vähekudisejate seas.

Kudinate jaoks on vaja ühtset kategoriseerimismeetodit, mis muudaks mugavamaks positiivse afekti uuringute tulemuste võrdlused. Praegu on pakutud mitmeid erinevaid (Wright et al 2010; 2013; Mahler et al. 2013), mis kõik ka samaaegselt kasutusel on. Baastasemel säilivad teatud sarnasused ning ravimsõltuvuse puhul on peamisteks võrdlusalusteks siiski lausikud ja trillid. Töös kasutatud kategoriseerimissüsteemis on aga trillide kategooria laiem ning sinna alla on lisatud kõik trilli-elementidega kudinad. Tulemuste järgi paistab selline meetod ka töötavat, kuid edasist uurimist on sellel alal vaja.

Üheselt kasutusel olev hindamismeetod peaks olema võimalikult spetsiifiline, mis lubaks kategoriseerida häälightsusi iga ravimi manustamisel, arvestades ravimite mõju iseärasusi kudinate akustilistele parameetritele, teisalt peab olema iga kategooria piisavalt põhjendatud, mis lubaks luua seoseid ja teha järeldusi ravimite mõjudest positiivsele afektile.

## **Lõppsõna**

Tahaksin siinkohal tänada oma kahte suurepärast juhendajat võimaluse eest sellel teemal uurimistööd teha. Kindlasti väärrib ka äramainimist nende pühendumus selle töö valmimisel ja õpetussõnade jagamisel. Olete hämmastavad, aitäh!

## Kasutatud kirjandus

1. Ahrens, A.M.; Ma, S.T.; Maier, E.Y.; Duvauchelle, C.L.; Schallert, T. (2009) Repeated intravenous amphetamine exposure: Rapid and persistent sensitization of 50-kHz ultrasonic trill calls in rats. *Behavioral Brain Research*, 197, 205-209.
2. Alttoa, A.; Eller, M.; Herm, L.; Rinken, A.; Harro, J. (2007) Amphetamine-induced locomotion, behavioral sensitization to amphetamine, and striatal D2 receptor function in rats with high or low spontaneous exploratory activity: Differences in the role of locus coeruleus. *Brain Research*, 113, 138-148.
3. Alttoa, A.; Harro, J. (2004) Effect of CCK1 and CCK2 receptor blockade on amphetamine-stimulated exploratory behavior and sensitization to amphetamine. *European Neuropsychopharmacology*, 14, 324-331
4. Barfield, R.J.; Geyer, L.A. (1972) Sexual behavior: Ultrasonic postejaculatory song of the male rat. *Science*, 176, 1349-1350.
5. Barfield, R.J.; Thomas, D.A. (1986). The role of ultrasonic vocalizations in the regulation of reproduction in rats. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 474, 33-43.
6. Berridge, K.C. (2003) Pleasures of the brain. *Brain and Cognition*, 52, 106-128.
7. Brudzynski, S.M. (2005) Principles of Rat Communication: Quantitative Parameters of Ultrasonic Calls in Rats. *Behavior Genetics*, 35, 85-92.
8. Brudzynski S.M. (2007) Ultrasonic calls of rats as indicator variables of negative or positive states: acetylcholine-dopamine interaction and acoustic coding. *Behavioural Brain Research*, 182, 261-273.
9. Brudzynski S.M. (2009) Communication of adult rats by ultrasonic vocalization: biological, sociobiological, and neuroscience approaches. *ILAR Journal*, 50, 43-50.
10. Burgdorf, J.; Knutson, B.; Panksepp, J.; Shippenberg, T.S. (2000) Evaluation of rat ultrasonic vocalizations as predictors of the conditioned aversive effects of drugs. *Psychopharmacology*, 155, 35-42.
11. Cador, M.; Bjijou, Y.; Cailhol, S.; Stintus, L. (1999) D-amphetamine induced behavioral sensitization: implication of a glutamatergic medial prefrontal cortex-ventral tegmental area innervation. *Neuroscience*, 94, 705-721.
12. Jeziorski, M.; White, F.J. (1995) Dopamine receptor antagonists prevent expression, but not development, of morphine sensitization. *European Journal of Pharmacology*, 275, 235-244.

13. Knutson, B.; Burgdorf, J.; Panksepp, J. (1999) High-Frequency Ultrasonic Vocalizations Index Conditioned Pharmacological Reward in Rats. *Psychology&Behavior*, 66, 639-643.
14. Lore, R.; Flannelly, K.; Farina, P. (1976) Ultrasounds produced by rats accompany intraspecific fighting. *Aggressive Behavior*, 2, 175-181.
15. Mahler, S.V.; Moorman, D.E.; Feltenstein, M.W.; Cox, B.M.; Ogburn, K.B.; Bachar, M.; McGonigal, J.T.; Ghee S.M.; See, R.E. (2013) A rodent „self-report“ measure of methamphetamine craving? Rat ultrasonic vocalizations during methamphetamine self-administration, extinction, and reinstatement. *Behavioral Brain Research*, 236, 78-89.
16. Maier, E.Y.; Abdalla, M.; Ahrens, A.M.; Schallert, T.; Duvauchelle, C.L. (2012) The missing variable: ultrasonic vocalizations reveal hidden sensitization and tolerance-like effects during long-term cocaine administration. *Psychopharmacology*, 219, 1141-1152.
17. Mu P, Fuchs T, Saal DB, Sorg BA, Dong Y, Panksepp J (2009) Repeated cocaine exposure induces sensitization of ultrasonic vocalization in rats. *Neuroscience Letters*, 453, 31-35.
18. Mällo, T.; Matrov, D.; Herm, L.; Kõiv, K.; Eller, M.; Rinken, A.; Harro, J. (2007) Tickling-induced 50-kHz ultrasonic vocalization is individually stable and predicts behaviour in tests of anxiety and depression in rats. *Behavioural Brain Research*, 184, 57-71.
19. Mällo, T.; Matrov, D.; Kõiv, K.; Harro, J. (2009) Effect of chronic stress on behavior and cerebral oxidative metabolism in rats with high or low positive affect. *Neuroscience*, 164, 963-974.
20. Panksepp, J.; Burgdorf, J.; Beinfeld, M.C.; Kroes, R.A.; Moskal, J.R. (2004) Regional brain cholecystokinin changes as a function of friendly and aggressive social interactions in rats. *Brain Research*, 1025, 75-84.
21. Pierre, P.J.; Vezina, P. (1997) Predisposition to self-administer amphetamine: the contribution of response to novelty and prior exposure to the drug. *Psychopharmacology*, 129, 277-284.
22. Robinson, T.E.; Berridge, K.C. (1993) The neural basis of drug craving: incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Research Review*, 18, 247-291.
23. Schoffelmeer, A.N.M.; De Vries, T.J.; Wardeh, G.; van de Ven, H.W.M.; Vanderschuren, L.J.M.J. (2002) Psychostimulant-Induced Behavioral Sensitization Depends on Nicotinic Receptor Activation. *The Journal of Neuroscience*, 22, 3269-3276.
24. Seligman, M.E.; Csikszentmihalyi, M. (2000) Positive psychology: An introduction. *American Psychologist*, 55, 5-14.
25. Simola, N.; Fenu, S.; Costa, G.; Pinna, A.; Plumitallo, A.; Morelli, M. (2012) Pharmacological characterization of 50-kHz ultrasonic vocalizations in rats: Comparison

- of the effects of different psychoactive drugs and relevance in drug-induced reward. *Neuropharmacology*, 63, 224-234.
26. Sinha, R. (2008) Chronic stress, drug use, and vulnerability to addiction. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1141, 105-130.
  27. Stewart, J.; Badiani, A. (1993) Tolerance and sensitization to the behavioral effects of drugs. *Behavioral Pharmacology*, 4, 289–312.
  28. Swiergiel, A.H.; Zhou, Y.; Dunn, A.J. (2007) Effects of chronic footshock, restraint and corticotropin-releasing factor on freezing, ultrasonic vocalization and forced swim behavior in rats. *Behavioural Brain Research*, 183, 178-187.
  29. Taracha, E.; Hamed, A.; Krzaścik, P.; Lehner, M.; Skórzewska, A.; Plaźnik, A.; Chrapusta, S. J. (2011) Inter-individual diversity and intra-individual stability of amphetamine-induced sensitization of frequency-modulated 50-kHz vocalization in Sprague-Dawley rats. *Psychopharmacology*, 222, 619-632.
  30. Thomas, D.A; Takahashi, L.K.; Barfield R.J.; (1983) Analysis of ultrasonic vocalizations emitted by intruders during aggressive encounters among rats (*Rattus norvegicus*). *Journal of Comparative Psychology*, 97, 201-206.
  31. Vanderschuren, L.J.M.J.; De Vries, T.J.; Wardeh, G.; Hogenboom, F.A.; Schoffelmeer, A.N. (2001) A single exposure to morphine induces long-lasting behavioural and neurochemical sensitization in rats. *European Journal of Neuroscience*, 14, 1533-1538.
  32. Vanderschuren, L.J.M.J.; Kalivas, P.W. (2000) Alterations in dopaminergic and glutamatergic transmission in the induction and expression of behavioral sensitization: a critical review of preclinical studies. *Psychopharmacology*, 151, 99–120.
  33. VM=Väike murdesõnastik. „Kudin“ (1989) Väike murdesõnastik. Tallinn: Valgus.
  34. Wise, R.A.; Bozarth M.A. (1987) A psychomotor theory of addiction. *Psychological Review*, 94, 679-720.
  35. Wright, J. M.; Gourdon, J. C.; Clarke, P.B.S. (2010) Identification of multiple call categories within the rich repertoire of adult rat 50-kHz ultrasonic vocalizations: effects of amphetamine and social context. *Psychopharmacology*, 211, 1-13.
  36. Wright, J.M.; Dobosiewicz, M.R.; Clarke, P.B. (2012) Alpha- and beta-adrenergic receptors differentially modulate the emission of spontaneous and amphetamine-induced 50-kHz ultrasonic vocalizations in adult rats. *Neuropsychopharmacology*, 37, 808–821.
  37. Wright, J.M.; Dobosiewicz, M.R.S.; Clarke, P.B.S. (2013) The role of dopaminergic transmission through D1-like and D2-like receptors in amphetamine-induced rat ultrasonic vocalizations. *Psychopharmacology*, 225, 853-868.



-----

Käesolevaga kinnitan, et olen korrektselt viidanud kõigile oma töös kasutatud teiste autorite poolt loodud kirjalikele töödele, lauselele, mõtetele, ideedele või andmetele.

Olen nõus oma töö avaldamisega Tartu Ülikooli digitaalarhiivis DSpace.

**Marten Vares**

-----